Al Chiar.mo Sig. Prof. Foà
omaggio dell'Ed.

ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

183

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GIACOMINI (Torino) — C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Genova)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Roma) — E. PERRONCITO (Torino) — E. SERTOLI (Milano)
C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

Estratto

TORINO
CARLO CLAUSEN

FIRENZE - ERMANNO LOESCHER - ROMA

1895

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XIX. N. 7.

Istituto Patologico della R. Università di Padova.
(Prof. A. Bonome).

RICERCHE SPERIMENTALI

SOPRA

ALCUNE ALTERAZIONI DEL SANGUE DOPO IL SALASSO

DEI DOTTORI

Giacinto VIOLA e **Giuseppe JONA**

Assistenti.

Intorno alle modificazioni che avvengono nella massa sanguigna dopo il salasso, molti osservatori hanno portato il loro contributo. Furono studiate le alterazioni della fibrina (Frémy, Bernard, Hayem), quelle dei residui secchi e dei corpi inorganici (Bizzozero e Sanquirico), quelle degli albuminoidi (Favilli, Torup, Mya e Viglezio), quelle del contenuto emoglobinico (Welcker, Vierordt, Heidenhein, Panum, Lesser, Bizzozero e Salvioli), ecc.

Noi tacciamo per brevità di tutti gli autori che si occuparono delle alterazioni morfologiche del sangue dopo il salasso, e dei mutamenti che vi avvengono quando si attiva la funzione ematopoietica.

Dopochè Hamburger (1) e Limbeck (2) hanno applicato allo studio del sangue il principio della plasmolisi, stabilito

(1) *Archiv f. Physiol.*, 1886 e 87.
Zeitsch. f. Biologie, Bd. XXVI; Neue Folge, Bd. VIII.
(2) *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak.*, Bd. XXV-XXVI.
Prager Mediz. Wochenschrift, 1890, n. 28-29.

da Hugo de Vries per le cellule vegetali, l'argomento dell'influenza dei più disparati agenti fisici e chimici, delle più svariate condizioni fisiologiche e patologiche sulla dissociazione dell'emoglobina dallo stroma ha assunto un'importanza affatto speciale, ed è stato in pochi anni assai riccamente illustrato.

Siccome però nessun autore fin'ora, a nostra conoscenza, ha rivolto l'attenzione all'isotonia dei corpuscoli rossi dopo il salasso, noi ci siamo proposto di fare delle ricerche in proposito.

Ma poichè la variabile resistenza delle emazie a cedere l'Hb non dipende soltanto dalla particolare intima struttura di esse (specialmente dalla loro età) ma è anche in diretta relazione colla composizione del plasma, per mezzo di intime e vicendevoli influenze tra parte corpuscolare e parte liquida del sangue, noi non potevamo disgiungere lo studio dell'isotonia dei corpuscoli rossi da quello del siero; così rivolgemmo la nostra attenzione anche al potere conservatore di esso verso le emazie, alla così detta *iperisotonia del siero.*

Intanto la rapida immissione in circolo dopo il salasso del liquido plasmatico dei tessuti (la quale può avvenire in tal quantità da ripristinare in poche ore la massa primitiva del sangue nei salassi moderati, secondo Buntzen) ci parve occasione assai favorevole per studiare con evidenza e facilità la reazione chimica del liquido che imbeve i tessuti, per mezzo delle variazioni che il suo rapido passaggio nel sangue avrebbe potuto determinare sulla reazione di quest'ultimo. Fatti questi di alta importanza biologica e che si rannodano ai problemi più interessanti del ricambio materiale. Noi tanto più volentieri ce ne occupammo, inquantochè non esistono in proposito, per quel che è a nostra conoscenza, che poche e insufficienti osservazioni di Zuntz (1867) (1), mentre l'indagine dell'alcalinità del sangue aveva per noi la speciale at-

(1) « Zur Kenntniss des Stoffwechsels im Blute » (*Centralbl. f. die Mediz. Wissenschaft*, n. 51, p. 801; 1867).

trattiva di servire mirabilmente a completare le altre nostre ricerche.

Metodo per l'alcalinità. — Con una siringa Banti aspiriamo da una vena dell'animale, senza metterla allo scoperto, ma infilandola coll'ago attraverso la cute, esattamente 2 cc. di sangue, i quali vengono immediatamente versati in 8 cc. di una soluzione al 10 %, perfettamente neutra, di solfato di sodio e solfato di magnesio. Il miscuglio viene agitato con eguale scuotimento in tutti i saggi all'aria, per prevenire la formazione di qualsiasi più piccolo coagulo e per allontanare in egual grado nei diversi saggi, l'anidride carbonica in lassa combinazione, o in soluzione nel sangue. Questa disturberebbe la reazione, specialmente sul tornasole, il quale è assai sensibile al CO_2. Il miscuglio, rapidamente centrifugato, fornisce un liquido incolore ed alcalino, che corrisponde al plasma diluito. È della titolazione del grado alcalimetrico di questo plasma che noi ci siamo esclusivamente occupati. Esso non corrisponde al grado alcalimetrico del sangue totale, poichè, come si sa, i corpuscoli rossi non solo hanno reazione alcalina, ma la loro percentuale alcalina è più forte di quella del plasma. Ma a noi appunto le sole variazioni alcalimetriche del plasma interessavano, mentre ci premeva di eliminare dai nostri saggi l'azione dell'ipoglobulia in sè e per sè.

Nè lo scuotimento del miscuglio, per quanto si riferisce alla sua azione meccanica, nè la concentrata soluzione di solfato di sodio e magnesio (come saggi preliminari ci avevano dimostrato, e come confermano ampiamente le recenti e interessanti ricerche di Loewy (1)), influiscono così sui corpuscoli rossi, da determinare il passaggio di equivalenti alcalini da essi nel plasma.

Piuttosto, potrebbe obbiettarsi che l'alcalinità che noi valutiamo, non è *tutta* quella del plasma. Infatti, come si sa che avviene nel sangue defibrinato, potrebbe nella nostra miscela avvenire un passaggio di alcali dal plasma nei corpuscoli,

(1) *Pflüger's Archiv*, Bd. 58, 1894.

durante l'ossidazione rapida di esso sotto l'azione dello scuotimento. Egli è difficile mettersi al coperto da ogni obbiezione, usando qualsiasi dei mezzi attualmente conosciuti per determinare l'alcalinità del plasma. Quello da noi preferito e modificato ci pare il migliore; del resto, non tanto i valori assoluti, quanto i relativi sono quelli che a noi massimamente interessano.

Il liquido limpido ed incoloro si presta mirabilmente alla titolazione esatta col mezzo delle cartine di lacmoide o di tornasole sensibilizzate. Come liquido titolatore ci servì l'acido tartarico in soluzione normale. Con esso empivamo una buretta, munita alla sua estremità di un ago-cannula. Il liquido poteva così uscire a piccole goccie, il volume delle quali veniva esattamente calcolato. Per lo più operammo sopra la quantità di 2 cc. di plasma diluito nel modo suddetto. Le nostre carte di tornasole o di lacmoide, tagliate in strette e brevissime striscioline, venivano immerse nel liquido, di mano in mano che si aggiungeva una nuova goccia d'acido.

Metodo per l'isotonia. — Rimandiamo pei particolari di questo metodo alla descrizione già data altrove da uno di noi (1). Il sangue, appena estratto nel modo descritto per l'alcalinità, non ancora coagulato, è distribuito a goccie nelle 25 soluzioni che vanno da 0,16 % di cloruro di sodio, a 0,64 %. Dal modo di comportarsi dei corpuscoli rossi, rispetto ad esse, è possibile distinguerne tre gruppi. Gli uni (pochissimi, invisibili ad occhio nudo) scampano già alle prime soluzioni: *resistenza massima.* La massima parte non si discioglie già più (nel cane) circa a 0,44 %: *resistenza media.* Una minima parte seguita a disciogliersi fino a 0,52 %, il che si vede quando, depositandosi i globuli di resistenza media, la soluzione che rimane al disopra è ancora leggermente tinta dall'Hb: *resistenza minima.* Noi ci siamo occupati di determinare solo le due ultime resistenze: la prima richiede l'aiuto del microscopio.

(1) G. Viola, « Alcune note intorno all'isotonia dei corpuscoli rossi » (*Gazzetta degli Ospedali,* 1894, n. 12).

Metodo per l'iperisotonia. — Quelli immaginati da Hamburger (1) e da Limbeck (2) non sono abbastanza pratici per le rilevanti quantità di sangue che richiedono. Sono poi inapplicabili in tutti i casi nei quali, in seguito al defibrinamento, come spesso avviene nei cani, o per condizioni patologiche, il siero si separa emoglobinico. Quello di Limbeck inoltre, se economizza un po' nella quantità di sangue, fornisce valori assai inferiori al vero.

Per poter determinare convenientemente la quantità di siero che occorre a compensare l'azione dissolvente dell'acqua sulle emazie, ci siamo serviti di un metodo, immaginato da uno di noi a scopo di ricerche cliniche di prossima pubblicazione (3). Con un ago-cannula, dei comuni da iniezioni ipodermiche, si possono estrarre da una vena, attraverso la pelle, agevolmente 15-20 cc. di sangue. Defibrinato, centrifugato, si decanta il siero, e dei corpuscoli si determina l'*isotonia media*. In una serie di 10, 12 piccoli tubetti della capacità di 4 cc. ciascuno, si distribuiscono 2 cc. di una soluzione di ClNa, sempre di una stessa quantità ipoisotonica (0,10 %), rispetto all'isotonia media già determinata. Ad es.: Isot. media 0,40; soluzione ipoisotonica 0,30.

In ogni tubetto quindi si distribuisce il siero in queste quantità gradualmente crescenti: mmc. 100, 110, 130, 160, 200, 250, 310, 380, e così via.

Quindi si mescola e si distribuisce in ogni tubetto una gocciolina dei corpuscoli centrifugati, dei quali già si conosce l'isotonia media. La quantità di siero che basta a compensare l'azione dissolvente di 2 cc. di una soluzione — 0,10 %, 0,10 % isotonica, è quella del primo tubetto, il quale si presenta opaco, Se ora si vuol risalire ad un numero, il quale ci esprima in

---

(1) Loc. cit.

(2) Loc. cit. Vedi inoltre: « Grundrisz einer klin. Pathol. des Blutes ». Jena, 1892.

(3) G. Viola, « Ricerche ematologiche in un caso di emoglobinuria parossistica da freddo ».

valori di NaCl l'iperisotonia del siero, non si ha che a risolvere una semplice equazione, di questa formula:

$$a \cdot 2 + x \cdot b = (2 + b)(a + 0{,}001)$$

in cui

a rappresenta la soluzione ipoisotonica adoperata,
$a + 0{,}001$ » la soluzione isotonica,
b » la quantità di siero contenuta nel 1° tubetto opaco,
x » il valore iperisotonico che si cerca.

Da essa è facile ricavare il valore di x, che corrisponde al valore iperisotonico di 1 cc. di siero

$$x = \frac{(2 + b)(a + 0{,}001) - (a \cdot 2)}{b}.$$

Il metodo ha il vantaggio, su quello di Hamburger e di Limbeck, di richiedere pochissimo sangue, di procurarlo agevolmente, di essere perfettamente applicabile anche a siero emoglobinico, di essere più sensibile, in causa della migliore graduazione, e finalmente di fornire valori più esatti.

Le alterazioni del sangue nelle prime ore dopo il salasso. — Noi scegliemmo quasi sempre grossi cani robusti, ai quali si potessero fare notevoli sottrazioni sanguigne. Il salasso veniva praticato per lo più dall'arteria femorale, senza narcosi di sorta, in un tempo solo, rapidamente. Variabilissima trovammo la resistenza dei diversi animali alle generose sottrazioni. Di due cani, del peso di Kgr. 22 ciascuno, l'uno ci morì di collasso, dopo 24 ore, per una sottrazione di 580 cc., l'altro sopportò bene un salasso di cc. 850. Un altro cane, del peso di 24 Kg., sopportò una sottrazione sanguigna di cc. 1000! Questa varia resistenza dei diversi animali, può esser legata fors'anche alle variazioni che possono esistere nel rapporto tra il peso della massa sanguigna e quello del corpo, che non sempre è di $^1/_{13}$ o di $^2/_{25}$, ma può esser anche sensibilmente superiore (Dastre (1)). In generale, i nostri salassi furono

(1) *Arch. de Physiol.*, 1893, p. 787.

nella proporzione di $^1/_{25}$ del peso del corpo, sebbene in alcuni casi ci piacesse di mitigarli alquanto.

Esperimentammo anche sopra 5 conigli, tralasciando in essi però lo studio dell'iperisotonia, pel troppo sangue che richiede.

Siccome l'animale veniva tenuto durante un'ora legato sull'apparecchio e senza narcosi, il che non era senza violenti movimenti da parte sua, così facemmo dei saggi di controllo, allo scopo di vedere quale influenza la lunga permanenza dell'animale sull'apparecchio, avesse sul sangue. I risultati furono assolutamente negativi.

I cani da noi esaminati erano tenuti a vitto prevalentemente carneo.

Gli esperimenti sommano a circa una ventina. I dati che essi ci hanno fornito non presentarono mai contraddizione tra loro. In generale furono più evidenti dopo salassi più generosi.

Tra essi noi sceglieremo un esempio dei più dimostrativi e completi.

Esperimento X.

Robusto e giovane cane del peso di Kgr. 22,600.

Sangue estratto	Indicazione del momento in cui si fa il saggio	N° d'ordine del saggio	Alcalinità di 100 cc. di sangue espressa in milligr. di NaOH	Resistenza		Iperisotonia espressa in valori di NaCl
				media	minima	
cc. 850	Media normale	I	178,80	0,42	0,52	gr. 1,90 %
	immediatamente dopo il salasso	II	178,80	0,42	0,52	» 1,90 »
	dopo $^1/_2$ ora dal salasso	III	154,10	0,46	0,58	» 0,92 »
	» 1 ora »	IV	122,92	0,46	0,60	» 0,92 »
	» 2 ore »	V	122,92	0,46	0,60	» 1,20 »
	» 2 $^1/_2$ ore »	VI	—	0,54	0,64	» 0,92 »
	» 7 ore »	VII	178,80	0,42	0,52	» 1,82 »
	» 1 giorno »	VIII	178,80	0,42	0,52	» 1,98 »

I risultati delle nostre ricerche si prestano alle seguenti considerazioni:

L'alcalinità del sangue decresce rapidamente dopo il salasso: questo fatto è stato costante in tutti i nostri esperimenti. Questa diminuzione comincia ad essere sensibile, solo dopo trascorso qualche minuto dal salasso, e raggiunge generalmente il suo massimo nelle prime due ore. Da allora l'alcalinità comincia a risalire lentamente.

Quanto tempo dopo il salasso raggiunge nuovamente la norma? Nell'esperim. XII, già dopo ore 4 $^1/_2$, nell'VIII dopo 5, nel IX dopo 6 essa fu trovata normale. Nell'esperimento qui riportato, dopo 7 ore. Ciò nei cani.

Nel primo giorno dopo l'operazione, in tutti i casi (nei cani come nei conigli) la norma era ristabilita.

Agevol cosa è lo spiegarci questa diminuzione di alcalinità: essa dipende dalla penetrazione in circolo del liquido plasmatico dei tessuti, il quale va a ripristinare la massa primitiva del sangue. Questo liquido, sovraccarico dei prodotti di disassimilazione acidi dei tessuti, ha necessariamente una reazione alcalina inferiore a quella del sangue, sebbene contenga i sali alcalini, principali fattori di essa, nelle stesse quantità, qualità e proporzione del sangue medesimo. È bene rammentare che ciò è stabilito non solo dalle analisi chimiche della linfa stessa, ma confermato dalle osservazioni di Bizzozero e Sanquirico (1), i quali dopo il salasso non trovarono quasi alcuna variazione nel quantitativo dei corpi inorganici del siero sanguigno.

Questi prodotti acidi, raccolti nel seno dei tessuti, allorquando rapidamente invadono il sangue, devono determinarvi degli scambi multipli tra elementi acidi e basici di esso, il cui risultato finale è un inacidimento del medesimo.

Bisogna por mente a questo, che quando pel salasso si è prodotta una notevole idroemia, noi, coi saggi di sangue, misuriamo effettivamente, nello stesso volume di 2 cc. una

(1) *Atti della R. Accademia delle Scienze di Torino*, vol. XVI, 1880.

maggior quantità di plasma (a carico dei corpuscoli diminuiti) che non in condizioni normali. Così i nostri dati, dopo il salasso, sono alquanto inferiori al vero, nel senso che devono segnare una diminuzione dell'alcalinità *minore* del vero. Per questa considerazione, le cifre da noi ottenute, diventano tanto più significanti.

Per ciò che riguarda gli esperimenti sui cani, tenuti a dieta carnea, potrebbe obbiettarsi che le condizioni di osservazione sulla diminuzione di alcalinità del sangue, non fossero le più favorevoli. Infatti i carnivori sarebbero provvisti, secondo Salkowski (1) e Walter (2) di un potere regolatore dell'alcalinità dei tessuti, il quale impedirebbe l'abbassamento dell'alcalinità, oltre un dato limite, mentre gli erbivori (conigli) possono finir di morire per progressiva diminuzione di alcalinità del sangue. Cohnstein (3) dimostrò che questo potere regolatore è maggiore nei cani tenuti a dieta carnea esclusiva, che non in quelli sottoposti a dieta vegetale. Si potrebbe dunque pensare che la diminuzione d'alcalinità, osservata nelle prime ore del salasso, fosse nascosta in parte dall'intervento di questo potere regolatore. Ma esperimenti comparativi sui conigli non ci hanno dimostrato abbassamenti più marcati di quelli dei carnivori. La ragione è da ricercarsi probabilmente nel fatto che detto abbassamento non oltrepassa il limite massimo, possibile nei carnivori.

Il rapido risalire al normale, dopo poche ore, della reazione del plasma, non è forse da attribuirsi solo alla intensità dei processi di ossidazione. Meritano qui di esser presi in considerazione i lavori di Hamburger, di Cohnstein e quelli recentissimi di Lehmann.

Hamburger ha dimostrato che sotto l'azione degli acidi, materie fisse passano dai corpuscoli al plasma. Facendo attraversare sangue defibrinato da una corrente di acido car-

---

(1) *Virch. Archiv*, vol. 58, p. 1.
(2) *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak.*, 1877, vol. VII.
(3) *Virch. Arch.*, Bd. CXXX, 1892.

bonico, albumina, zucchero, grassi ed alcali passano dai corpuscoli nel siero (1). Cohnstein (2) osservò pure che sotto l'azione di una corrente di CO_2 il siero di sangue di cane defibrinato, aumentava di alcalinità a spese dei corpuscoli. Lehmann (3) conferma questi risultati. Non è dunque improbabile, che sotto l'influenza dell'inacidimento del plasma dopo il salasso, i corpuscoli cedano a questo parte dei loro equivalenti alcalini. Sebbene a noi manchino a questo proposito osservazioni comparative tra l'alcalinità dei corpuscoli e quella del plasma, lo studio della resistenza delle emazie, come tosto diremo, contribuisce alquanto a confermare queste vedute.

Ad ogni modo, data la rapidità con cui il plasma del sangue tende a ristabilirsi entro i limiti della sua reazione fisiologica, ci sarà agevole il comprendere come una alterazione non sia apprezzabile subito dopo il salasso, o dopo trascorse alcune ore. Infatti nel 1° caso la corrente linfatica è tenue, perchè non si è stabilita ancora con tutta la sua intensità, e nel 2° si è già assai mitigata, come dimostrano le ricerche emoglobinometriche di Bizzozero e Salvioli (4). Essa viene quindi neutralizzata di mano in mano che penetra.

Ma le alterazioni più notevoli sono quelle che le rapide sottrazioni sanguigne determinano sulla *isotonia dei corpuscoli rossi*. Questa diminuzione di resistenza è comune alla media e alla minima; tuttavia si fa sentire un po' più sulla seconda.

Quello che vi è di notevole, si è che ben presto questi abbassamenti delle resistenze, vengono rapidamente a scomparire, coincidendo il ritorno alla normale di esse, con quello dell'alcalinità. Per l'appunto Hamburger notava, sotto l'in-

---

(1) *Arch. f. Anat. u. Physiol.* Physiol. Abtheil., 1892, p. 513 e 1893 Supplem., pag. 153, 1894, Heft VI. — Anche *Arch. de Physiol. norm. et pathol.*, t. V, p. 338, 1893.

(2) Loc. cit.

(3) *Pflüger Arch.*, 1894; H. 8, 9.

(4) *Arch. per le Scienze mediche*, vol. IV, fasc. II, 1880.

fluenza degli acidi, la coincidenza del passaggio di materie fisse e di alcali dai corpuscoli nel plasma, con la diminuita resistenza di questi ultimi. Appare dunque anche per questo fatto, più che mai verosimile, come sopra dicevamo che, sotto la dipendenza della penetrazione in circolo della linfa dei tessuti, si determinino, pel fatto della alterata crasi sanguigna che ne consegue, degli anormali scambi tra i rispettivi costituenti dei corpuscoli rossi e del liquido che li bagna. In seguito ad essi, avviene probabilmente una perdita da parte dei corpuscoli, di materie fisse e di alcali, donde la necessità di una maggiore concentrazione salina, per equilibrare l'azione dissolvente dell'acqua distillata (Hamburger). In quanto all'influenza che questo passaggio di alcali ecc. può avere nel ripristinamento della primitiva reazione del plasma, essa non può essere che molto secondaria e temporanea, riacquistando ben tosto i corpuscoli rossi la primitiva costituzione man mano che il plasma va ristabilendosi, per altra via, nelle sue condizioni normali.

Noi non abbiamo qui preso in considerazione l'asserzione di Lakschewitz (1) che, dopo il salasso, i corpuscoli rossi assumano acqua, in quanto che Max Bleibtreu ha dimostrato erroneo detto fatto.

Lo studio dell'*iperisotonia del siero* nelle sue oscillazioni in generale parallele a quelle dell'alcalinità e dell'isotonia, è un altro indice sicuro dei notevoli mutamenti che portano nel sangue le forti e improvvise correnti linfatiche dei tessuti.

Poichè dette correnti diminuiscono le concentrazioni iperisotoniche del plasma sanguigno (sopportando esso una diluzione minore del normale, prima di perdere il proprio potere conservatore verso le emazie) si deve pensare che dette cor-

(1) Inaugur. Abhandlung Dorpat 1892; citato da Bleibtreu; *Pflüg. Arch.*, Bd. 54, H. 1 e 2, pag. 2.

renti abbiano realmente una concentrazione iperisotonica inferiore a quella del plasma. Se in generale essa è in dipendenza dei sali inorganici, sciolti nel plasma, non lo è però esclusivamente. Veramente, con maggiore esattezza, essa esprime la risultante dell'azione complessiva di queste e di altre diversissime sostanze, delle quali, alcune, come i sali, sono favorevoli alla conservazione delle emazie, mentre altre sono loro assai dannose. Ora la natura delle speciali alterazioni che presenta il plasma a questo riguardo, non va cercata nei sali inorganici, come abbiamo detto. Neppure si può attribuire alla sensibilmente diminuita percentuale di albuminoidi, ristabilendosi l'iperisotonia assai prima di quest'ultima. Ma poichè l'iperisotonia torna al normale, quando vi ritorna l'alcalinità e la resistenza, è lecito pensare che tutte e tre queste proprietà del sangue oscillino sotto la dipendenza di una causa comune: la penetrazione in circolo dei prodotti di dissimilazione acidi dei tessuti.

Le alterazioni del sangue nei giorni successivi al salasso. — Continuammo, sugli animali che sopravissero alle gravi sottrazioni sanguigne subite per la prima parte di queste ricerche, a saggiare a lungo il sangue dopo il salasso. Altri animali operammo (quattro cani e due conigli) puramente a questo secondo scopo. Era nostra mira principale il vedere come si comportasse la resistenza delle emazie durante la rinnovazione del sangue, per opera dell'ematopoiesi.

Ognuno conosce quanto sia difficile stimolare gli organi ematopoietici nel cane, e come questi tardi rispondano anche alle più gravi anemie. Noi li sottoponemmo o ad un unico valido salasso, o a salassi modici ripetuti di frequente.

Siccome intanto le ricerche precedentemente esposte e quelle anche degli sperimentatori sopra citati ci dimostravano la stretta relazione che passa tra la resistenza delle emazie e l'alcalinità del mezzo in cui bagnano, non tralasciammo di porci

l'interessante quesito se la riproduzione del sangue coincidesse con un aumento di alcalinità del plasma sanguigno.

Talvolta fu pure parallelamente studiata l'iperisotonia.

Valga, come esempio dei risultati che è possibile ottenere con un unico ma grave salasso in un cane giovane e ben nutrito, il seguito delle osservazioni fatte nell'esperimento stesso già citato più sopra.

Esperimento X.

Ricordiamo che il robusto cane del peso di Kgr. 22,600 sopportò benissimo una sottrazione di sangue di cc. 850. Le medie normali, stabilite con parecchi saggi prima dell'operazione, e trovate molto costanti, sono date dai numeri seguenti:

Alcalinità 178,80 mmgr. di NaOH in 100 cc. di sangue.
Resistenza media 0,42.
» minima 0,52.
Iperisotonia del siero: gr. 1,90 % di ClNa.

Nel saggio fatto 7 ore dopo il salasso le proprietà del sangue erano tornate al normale.

Momento in cui fu fatto il saggio	N° d'ordine del saggio	Alcalinità espressa in milligr. di NaOH per 100 cc. di sangue	Resistenza		Iperisotonia espressa in gr. di ClNa
			media	minima	
dopo 1 giorno dal salasso	VIII	178,80	0,42	0,52	1,98
» 2 giorni »	IX	—	0,42	0,54	1,98
» 3 » »	X	167,62	0,42	0,54	1,90
» 5 » »	XI	178,80	0,42	0,52	1,65
» 7 » »	XII	189,97	0,40-0,42	0,52	1,98
» 9 » »	XIII	201,15	0,40	0,54	1,96
» 12 » »	XIV	189,97	0,32-0,34-0,36-0,38	0,52	1,90
» 16 » »	XV	—	0,32-0,34	0,50	2,05
» 20 » »	XVI	189,97	0,32	0,50	1,65

L'animale viene sacrificato: la milza e il midollo delle ossa sono ematopoietici. Numerosi globuli rossi nucleati si presentano in ogni campo del microscopio.

Nell'esperimento seguente furono fatti salassi non gravi, ma ripetuti.

Esperimento IV (seconda serie).

Piccolo cagnolino del peso di Kgr. 4,600.

18 *gennaio* '95. — Legato l'animale, si rade al collo, e senza incidere i tegumenti, si infila con la siringa Banti la giugulare esterna, estraendo coll'aspirazione il sangue necessario all'esame.

Resistenza media 0,50
» minima 0,60
Alcalinità mmgr. 78,22 di NaOH.

21 *gennaio* '95. — Il saggio del sangue normale dà per risultati:

Resistenza media 0,48-0,50
» minima 0,58-0,60
Alcalinità mmgr. 89,40 di NaOH.

21 *gennaio* '95. — Saggio normale:

Resistenza media 0,50
» minima 0,60
Alcalinità mmgr. 89,40 di NaOH

24 *gennaio* '95. — Saggio normale:

Resistenza media 0,50
» minima 0,58-0,60
Alcalinità mmgr. 89,40 di NaOH.

Dall'arteria femorale destra si fa il 1° salasso di cc. 190.

1 *febbraio* '95. — La ferita si è chiusa asetticamente. Il cane, durante questi otto giorni, è stato nutrito abbondantemente.

Resistenza media 0,42-0,44-0,46
» minima —
Alcalinità mmgr. 100,57 di NaOH.

Dall'arteria femor. sinistra si estraggono cc. 160 di sangue (2° salasso).

8 *febbraio* '95. — La ferita procede bene. Il cane è sempre egualmente vivace.

Resistenza media 0,38-0,40-0,42
» minima 0,58
Alcalinità mmgr. 100,57.

3° salasso di cc. 100 circa dalla vena femorale destra.

14 *febbraio* '95. — Resistenza media 0,36-0,38-0,40
» minima 0,58
Alcalinità mmgr. 122,92.

20 *febbraio* '95. — Resistenza media 0,34-0,36-0,38
» minima 0,56
Alcalinità —

10 *marzo* 1895. — Il cagnolino viene trovato in uno stato estremo di denutrizione. È calato notevolmente di peso. Essendo stato chiuso, durante questi 17 giorni, erroneamente in una medesima gabbia con una grossa cagna, questa deve avergli impedito di nutrirsi colla carne che veniva gettato loro in comune.

Resistenza media 0,46-0,48
» minima 0,64 è ancora tinta e la serie delle soluz. di ClNa non va oltre, nel saggio fatto.

Per vedere se l'animale fosse tuttora in stato ematopoietico, venne asportata la milza per esaminarla. Non presentava nè i caratteri macroscopici, nè i microscopici della milza ematopoietica.

L'animale muore dopo poche ore, forse di shock. Neanche il midollo delle ossa presenta globuli rossi nucleati in maggior abbondanza del normale.

Questi due esempi sono tra i nostri più dimostrativi. Ma i diversi animali offrono una sensibilità diversissima di reazione al salasso, e anche dopo salassi generosi possono tardare assai di più a presentare una reazione. D'altra parte, se i salassi non sono abbastanza forti, nessuna reazione si accentua; valga il seguente esempio.

Data del saggio	Alcalinità espressa in mmgr. di NaOH	Resistenza		Osservazioni
		media	minima	
30 ottobre '94	—	0,44	0,54	
4 novembre	—	0,42-0,44	0,54	
7 »	134,10	0,44	0,54	
10 »	134,10	0,42-0,44	0,54	
15 »	134,10	0,44	0,54	
18 »	—	—	—	1° salasso di cc. 100.
24 »	134,10	0,42-0,44-0,46	0,58	
28 dicembre	—	0,42-0,44-0,46	0,58	Dopo il saggio, 2° salasso di cc. 100.
17 gennaio	134,10	0,40-0,42	0,58	Dopo il saggio, 3° salasso di cc. 130; viene fatta la laparatomia esplorativa per esaminare la milza, che presenta i caratteri macroscopici di una milza normale. La si rimette al posto, e si chiude la ferita.
23 »	167,62 (?)	0,38-0,40	0,56	Il cane si è dilacerato coi denti la sutura superficiale della parete addominale, la quale suppura abbondantemente.
4 febbraio	145,27	0,38-0,40-0,42	0,60	Suppurazione. Il cane è febbricitante.
23 »	145,27	0,38-0,40-0,42	—	Il cane si è rimesso.

Il cane viene sacrificato, i suoi organi ematopoietici sono normali: non si riscontrano che rarissimi globuli rossi nucleati nel midollo del femore.

Più agevole è ottenere un aumento di resistenza nei conigli.

Esperimento.

Coniglio del peso di Kgr. 2.200.

Data dell'esame	Alcalinità espressa in mmgr. di NaOH	Resistenza		
		media	minima	
15 genn.	145,27	46	0,56	Media normale. Estrazione di 25 cc. di sangue, dopo il saggio.
18 »	134,10	0,44-0,46	0,56	Estraz. di 30 cc. » »
22 »	156,55	0,42-0,44-0,46	?	» 25 » »
29 »	178,80	0,30-0,32-0,34-0,36-0,38	0,54	» 25 » »
7 febbr.	189,97	0,34	0,56	» 25 » »

Il coniglio, sacrificato, è in istato di attiva ematopoiesi.

Se adunque, per un sufficiente numero di giorni, si seguita, dopo il salasso, a saggiare la resistenza delle emazie, si può vedere che a distanze variabili dall'operazione, detta resistenza che era ritornata e si manteneva normale, comincia a salire. E precisamente non risalgono entrambe, la *media* e la *minima*, ma solo la prima; e la seconda può anche discendere leggermente in qualche saggio, o rimaner stazionaria, o salire insignificantemente.

La *media* risale a questo modo: nelle provette di concentrazione inferiore, che immediatamente la precedono, il sangue comincia a non disciogliersi più completamente, e tuttavia il numero dei corpuscoli che in esse si salva è ancora così scarso, che le soluzioni non sono nettamente opache. Queste provette di passaggio possono anche essere tre o quattro. Esse vanno facendosi di giorno in giorno più dense di corpuscoli,

finchè la resistenza media, così risalita, viene ad essere segnata nettamente da esse.

Abbiamo trovato i primissimi indizii del risalire delle resistenze, nei cani fortemente salassati una volta sola, al più presto, già dopo sette giorni, ma talvolta assai più tardi; prima nei conigli. Se nel momento del massimo aumento della resistenza (25-30 giorni dopo il salasso) si sacrificano gli animali, si possono vedere in essi la milza ed il midollo delle ossa in stato di ematopoiesi.

Ma se i salassi non furono abbastanza energici, o non sufficientemente ripetuti, o ripetuti a troppa distanza tra loro, come ad es. nell'esperimento III (seconda serie), non si ha aumento della resistenza, o appena accennato. Anche i singoli animali presentano tra di loro variabilissima sensibilità di reazione ai salassi. In qnesti casi, gli animali sacrificati non hanno mai presentato organi ematopoietici in attività parziale o totale, come pure non presentava organi ematopoietici in attività il cagnolino dell'esperim. IV (seconda serie), dopo un mese dall'ultimo salasso e quando la resistenza, dopo aver presentato notevoli aumenti, era ridiscesa al normale.

Noi crediamo perciò di dover mettere in rapporto la neoproduzione dei globuli rossi coll'aumento della resistenza media, come già uno di noi mise in rapporto l'aumento di essa nella malaria (coincidente coll'aumento del peso specifico del sangue) colla riproduzione del sangue.

Questo dato ci sarebbe completamente sfuggito, se, come usano gli autori tedeschi, ci fossimo occupati di stabilire la sola resistenza minima. Le modificazioni ai metodi di Mosso e di Hamburger, di cui abbiamo fatto uso, permettendoci di scindere i globuli in due gruppi ben distinti, ci rese possibile lo studiarne separatamente le proprietà, che, per identiche condizioni fisiopatologiche, possono essere diversissime ed anche opposte.

In generale si può pensare che l'isotonia dei globuli è sotto la diretta dipendenza di tre fattori principali:

il plasma sanguigno,

l'attività degli organi formatori del sangue,

l'attività degli organi distruttori del medesimo.

Quando per condizioni fisiopatologiche svariate, cambierà la costituzione intima del plasma, i corpuscoli sanguigni diventeranno un prezioso *reattivo* della massima sensibilità per renderci avvertiti degli avvenuti mutamenti. Siccome l'influenza del plasma si esercita necessariamente su *tutti* i globuli, i varii gruppi di essi presenteranno contemporaneamente oscillazioni parallele, in più od in meno, della isotonia. Il gruppo dei corpuscoli più labili, potrà, al più, reagire con maggiore sensibilità.

Di questo genere di oscillazioni, noi abbiamo un chiaro esempio nelle prime ore dopo il salasso.

Quando invece entrano in azione gli altri due fattori, il modo di comportarsi dell'isotonia del gruppo giovane e vecchio dei corpuscoli, diventa affatto indipendente. L'aumento dell'attività degli *organi formativi* determina l'immissione in circolo di giovani corpuscoli, di resistenza molto alta, i quali gradatamente accumulandosi, diventano ben presto visibili ad occhio nudo e intorbidano le più basse soluzioni di NaCl. Così aumenta la resistenza media. Se l'attività degli organi formatori si arresta, man mano che i corpuscoli rossi già esistenti andranno invecchiando e quindi diminuendo di resistenza, si trasporterà a soluzioni sempre più concentrate la *resistenza media* che quindi discenderà.

Durante queste oscillazioni, la resistenza minima non dovrà subire spostamenti, essendo essa in dipendenza degli organi distruttori del sangue, i quali finchè normalmente funzioneranno, non permetteranno che circolino globuli di resistenza inferiore alla minima normale, come pure non eccederanno, distruggendo globuli che normalmente possono ancora circolare. Esempi di queste oscillazioni indipendenti delle due resistenze, si verificano nella malaria, si hanno qualche tempo

dopo il salasso, specialmente quando l'una o l'altra di queste condizioni patologiche hanno determinato un risveglio degli organi emopoietici.

Si verifica sensibile aumento di alcalinità nel plasma, durante la funzione emopoietica riparatrice dell'anemia da salasso.

Ci è grato di esprimere i sensi della nostra gratitudine al nostro maestro, Prof. A. Bonome, per la larghezza con cui ci ha fornito di mezzi di lavoro e di consigli.

Padova, 12 Marzo 1895.